中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）48(2)：128～134（1999）

香水百合鱗片之農藥及肥料處理對於叢枝菌根菌接種之影響[1]

吳繼光[2] 林素禎[2] 林妙玲[2] 吳國典[3] 陳文輝[3]

摘要: 本文首次報導叢枝內生菌根菌在香水百合鱗片打破休眠期間，可以在施用殺蟲劑及殺菌劑的情況下，順利進入小芽球的幼根內生長；並且在不添加肥料的情形下具有促進芽球生長的效果。肥料的添加會影響菌根菌的接種效應。有關菌根菌在感染小芽球的幼根後，根內菌絲的生長，以及皮層細胞內含物的變化，亦在本文中討論。

關鍵詞：百合、農藥、肥料、菌根菌。

前　言

近年來我國為因應加入 WTO 後所產生的衝擊，在整個農業的生產方向已逐漸走向精緻農業。具有高經濟價值的花卉產業正是許多農友們努力從事的目標。單就球根花卉而言，我國在民國 82 年的生產面積已達 1304 公頃[(2)]，產值達 14 億餘元。而民國 86 年臺灣地區的百合種植面積已達 315 公頃，產值亦達 8.4 億元[(1)]。生產球根花卉所需的種球幾乎全仰賴進口，其中百合的進口金額更居總球根量之七成[(4)]。除鐵砲百合有少數本省自有原生品系在臺灣繁殖種球外，絕大多數栽培用種球均由荷蘭進口。估計我國目前每年由荷蘭進口之種球達 2000 萬球以上[(1)]。

為促進產業升級，落實品種本土化，球根花卉品種的開發與種球生產技術為目前政府推行生物技術產業重點項目之一。目前業界以人工方式自開花球剝取鱗片後。透過 25-17-5°C 的降溫流程進行打破休眠，以便在鱗片上長出周徑約一公分的小芽球。但在鱗片剝取後，為了防止鱗片的傷口受到雜菌的污染，以及為了防範儲存期間的腐敗與昆蟲的入侵，因此需將這些鱗片浸以化學藥劑。這些藥劑包括撲克拉(prochloraz)、貝芬替(carbendazim)、依得利(terrazole)、佈飛松(profenofos)等。浸完藥劑晾乾後的鱗片約 2000 片，集體混合蛭石後，以塑膠紙包裝置於長寬高各為 60x40x24 cm 的塑膠箱並放置於冷藏庫中，以 25-17-5°C 降溫流程共七個月打破休眠。打破休眠後的鱗片上長有 1 至數顆的小芽球與新根。由於眾多的鱗片及新根糾纏在一起，因此需再以人為方式將新根糾纏的鱗片分開。這種動作極易造成小芽球的脫落與新根的撕斷受傷。

為了節省人工，以及避免因分開糾纏的鱗片而造成小芽球的脫落與新根的撕斷受傷，將人工剝取的單一鱗片單獨包裝於小封口袋中應可避免上述人力的浪費與根部的傷害。同時為了測試叢枝內生菌根菌在上述條件下接種是否可促進種球的生長以及在上述農藥的使用下是否會影響叢枝內生菌根菌的感染，特別設立本試驗，並將試驗結果討論記錄於后。

1. 臺灣省農業試驗所　研究報告第 1979 號。
2. 本所農化系副研究員、助理研究員、計畫助理。
3. 臺灣糖業研究所園藝系研究員、系主任。

材料與方法

一、 **供試材料與品種**：東方型香水百合 (*Lilium oriental* hybrid Casa Blanca)。材料由開花球(周徑 18~20 cm)所剝下的鱗片。每一鱗片裝於一小塑膠袋中, 內含菌根菌及介質(介質含量爲 200ml/包)。

二、**供試菌種**：*Glomus intraradices* (SM-113; 簡稱 LITR), *Entrophosproa kentinensis* (SM-278; 簡稱 EKTN)。供試菌種所適用的土壤主要涵蓋 pH6~8 的土壤。接種濃度爲每毫升介質含 1 個孢子。接種方法爲菌土與栽培介質混合均勻後將鱗片植入。

三、**栽培介質**：蛭石(4 號) : 水 = 5 : 1 v/v，其中加入粗粒魔肥 2 顆 / 200ml（磷含量約 37.4mg / 200ml）爲實驗組，並加入菌土，使孢子濃度約爲 1 spore / ml。以不加肥者及不加菌者爲對照組。

四、**試驗設計**：處理包括接菌根菌試驗(CK，LITR ，EKTN)，介質加肥料(+/-)，農藥試驗(鱗片不浸泡農藥+鱗片浸泡農藥)共有 12 個處理。這些藥劑包括撲克拉、貝芬替、依得利、佈飛松等。各農藥所使用之劑量均依各推薦量添加。每一處理含有 50 鱗片。每一處理各 3 重複。每單一鱗片含介質包裝於單一小塑膠袋後, 經過 25°C 3 個月, 17°C 1 個月, 5°C 3 個月的降溫流程以打破休眠，待 12 月上旬田間播種。其間處理後 135 天每一處理選取一籃(50 袋)量取鱗球直徑。就小芽球球徑大小、菌根的感染率[12]等進行調查。

本試驗擬驗證之因子包括上述之農藥是否會影響菌根菌與百合形成菌根? 鱗片單獨包裝後, 若菌根菌可順利感染, 芽球的生長是否會受影響?

結果與討論

本試驗結果顯示，在所有添加肥料於介質的處理中(表 1)，以接種菌根菌 SM-113 (*G. intraradices*) 者在根內的感染情形良好。但是另一接種菌根菌 SM-278 (*E. kentinensis*)者在添加肥料的情形下，根部

表 1. 香水百合鱗片之農藥及肥料處理對於叢枝菌根菌接種之影響

Table 1. Influence of biocides and fertilizers on the colonization and bulblets growth of Lily (Casa Blanca)

Treatments		Bulblet perimeter（mm）	Colonization（%）
None-biocides None-fertilizers	CK[z]	11.94[aby]	0[c]
	113	11.85[ab]	6[bc]
	278	11.44[ab]	3[c]
None-biocides Fertilizers	CK	11.95[ab]	0[c]
	113	11.56[ab]	4[c]
	278	11.46[b]	0[c]
Biocides None-fertilizers	CK	7.17[c]	2[c]
	113	12.78[a]	14[b]
	278	12.51[ab]	4[c]
Biocides Fertilizers	CK	11.98[ab]	0[c]
	113	11.78[ab]	25[a]
	278	12.20[ab]	0[c]

[z] CK: Control, 113: *Glomus intraradices*, 278: *Entrophospora kentinensis*.

[y] Means followed by the same letter within the same column are not significantly different at 5% level by LSD test.

的感染率爲零。似乎後者的菌種對於肥份的添加較前者敏感。上述兩種的接菌組在鱗球的生長上與對照組相較，接菌組的鱗球大小並沒有顯著差異。 由此可見，在每袋介質中所添加的磷含量(約 37.4mg / 200ml)可能中和了叢枝菌根菌(*G. intraradices*)對於磷吸收的作用。至於在不施用化學藥劑的處理下，鱗球的大小即使在不添加肥料的情形下，接菌組與對照組間也沒有差異。甚至接菌組的球徑會較對照組稍小。顯示接菌組在這種條件下，菌根菌的感染似乎並不能發揮作用，反而造成鱗球的負擔。而在不使用殺菌劑及殺蟲劑的處理下，百合鱗片上的微生物可能有助於幼根對於養份的吸收。若比較化學藥劑與非化學藥劑兩組的處理中，SM-113 在百合幼根內的感染情形，發現 *G. intraradices* 在有化學藥劑的處理下，無論是否添加肥料，其在百合根內的感染率較高。對 *G. intraradices* 而言，本次試驗所使用之四種混合化學藥劑似乎對該菌具有提升感染率的作用。

在接種叢枝菌根菌(SM-113 *G. intraradices*)殺菌無肥之處理下明顯在處理 135 天後，其鱗球直徑較其他組別爲大(圖 1 及表 1)。目前有接種菌根菌的各組感染率仍低，其中以 SM-113 接種者感染率較高(可達 25%)。 就平均值而言，在已被感染的組別其鱗球直徑亦較大於其它他未感染之組別。施用殺菌劑及殺蟲劑於百合鱗片的消毒是目前業界使用的既定方法，因爲唯有如此，才能保障鱗片在存儲過程中不至腐爛與細小昆蟲的入侵。因此在本處理下，接種菌根菌不但可促進種球的增大且又符合目前業界的處理流程，相得益彰。

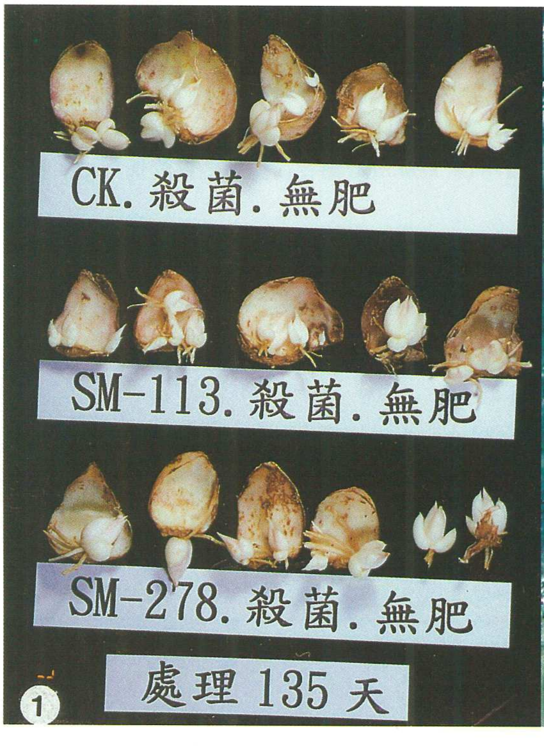

圖 1. 在使用殺菌劑及不添加化學肥料的處理下，各處理間小芽球生長的情形。CK:對照組， SM-113:菌根菌(*Glomus intradices*)，SM-278: 菌根菌(*Entrophospora kentinensis*)。

Fig. 1. Bulblet production from single lily scale (*Lilium oriental* hybrid Casa Blanca) under the treatment of biocides and none-fertilizer. CK: control, SM-113: *Glomus intraradices*, SM-278: *Entrophospora kentinensis*.

圖 2. 叢枝內生菌根菌(SM-278 *Entrophospora kentinensis*)在香水百合小芽球的幼根內感染的情形。箭頭所示爲菌絲進入鄰近細胞前所形成的箭頭狀分叉構造。比例尺所示長度爲 20μm。

Fig. 2. Colonization of *Entrophospora kentinensis* within the roots of lily bulblet. Arrow-like branching structures (Arrow heads) formed before intraradical hyphae enter neighboring cells. Scale bar=20μm.

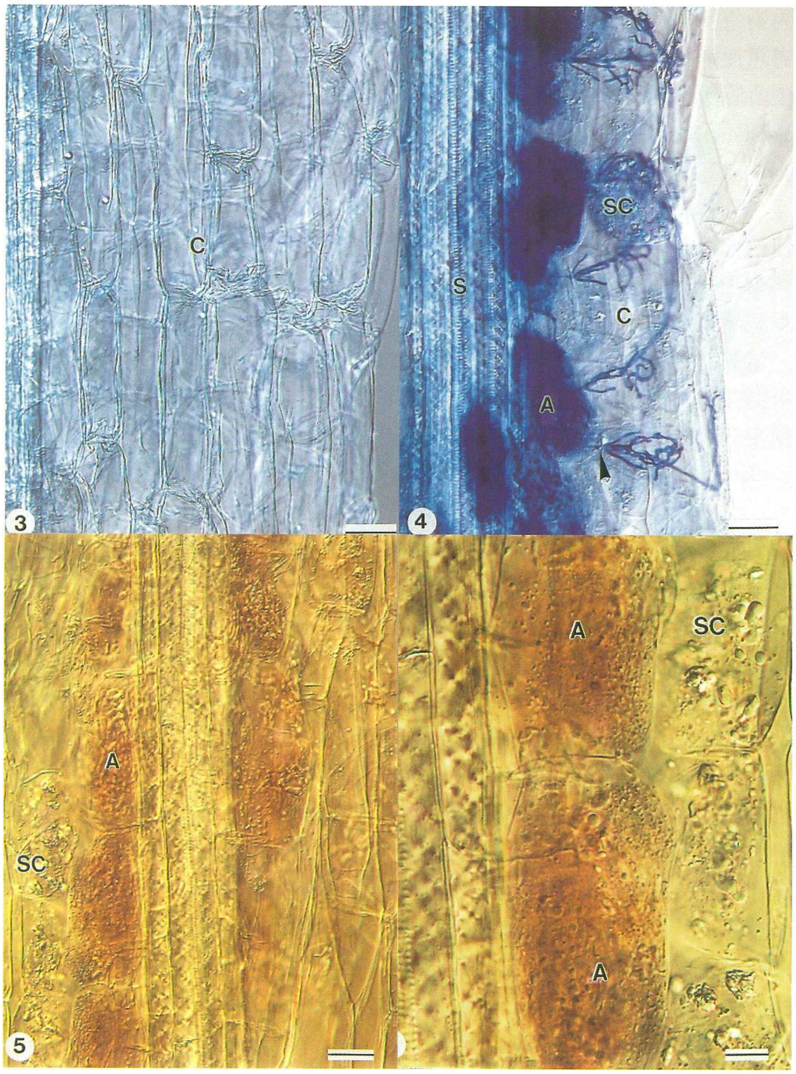

圖 3. 對照組小芽球幼根的皮層細胞(C)及中柱(S)。比例尺所示長度為 50μm。

Fig. 3. Cortical cells (C) and stele (S) of lily roots not inoculated by VA mycorrhizal fungi. Note the absence of any intraradical infective structures and storage substance within cells. Scale bar=50μm.

圖 4. 叢枝內生菌根菌(SM-113 *Glomus intradices*)在香水百合小芽球的幼根內感染的情形。延著中柱可見充滿整個細胞的叢枝體(A)及鄰近的儲存細胞(SC)。箭頭所示為菌絲進入鄰近細胞前所形成的箭頭狀分叉構造。比例尺所示長度為 50μm。

Fig. 4. Colonization of *Glomus intraradices* within the roots of lily bulblets. Arbuscules (A) and storage cells (SC) could be found along the stele. Note the arrow-like branching structure (arrow head) within cor-tex (C) as infective hypha enter cells. Scale bar=50μm.

圖 5. 叢枝內生菌根菌(SM-113 *Glomus intradices*)在香水百合小芽球的幼根內感染的情形。經以碘液染色，可見中柱兩旁含叢枝體(A)的內皮層細胞被染成暗褐色；但鄰近的儲存細胞(SC)則呈中性反應。比例尺所示長度為 50μm。

Fig. 5. Colonization of *Glomus intraradices* within the roots of lily bulblets. The arbuscular cells (A) could be stained dark brown by Melzer's reagent (iodine). However, storage cells (SC) respond neutrally. Scale bar=50μm.

圖 6. 香水百合小芽球幼根內的叢枝體(A)與儲存細胞(SC)。經以碘液染色後，中柱兩旁含叢枝體(A)的細胞內含物被染成暗褐色；但鄰近的儲存細胞(SC)其內含物則呈中性反應。比例尺所示長度為 20μm。

Fig. 6. Close up of arbuscular (A) and storage (SC) cells within the roots of lily bulblets. The arbuscular cells (A) could be stained dark brown by Melzer's reagent. However, storage cells (SC) respond neutrally. Scale bar=20μm.

經由根部的染色及顯微觀察發現，農藥的處理並不影響菌根菌接種至百合根部(圖 2)。這些藥劑除依得利曾被報導可促進萵苣及蘇丹草的菌根菌感染與產孢外[3,8,10]，其餘的藥劑如撲克拉、貝芬替、佈飛松等對於菌根菌接種的影響則尚未被記錄。在本次試驗中發現使用殺菌劑處理的鱗片, 在未加肥料的情形下, 若接種菌根菌(SM-113 or SM-278)對於種球之生長增大有顯著的差異。 在殺菌無肥料添加的對照處理中, 鱗莖直徑僅 7.17mm。 若接種菌根菌, 則鱗莖直徑可達 12.78mm(SM-113), 或 12.51mm(SM-278) 。

有關百合接種有益微生物以加速種球增大的研究報告，國內外並不多見。Ames [7]及 Vanderploeg [11]等人於溫室中將鐵砲百合(*Lilium longiflorum* Thunb.)幼苗接種囊叢枝內生菌根菌後，證實對於種球有增大的效果。本試驗結果與上述情形相似；但不同的是，本次叢枝菌根菌的接種是在百合鱗片打破休眠期間進行的。這個期間完全沒有光合作用進行，因此叢枝內生菌根菌生長所需的碳水化合物可能直接來自鱗片內所儲存的養份。由於在沒有添加肥料的情形下，接種菌根菌能促進種球的增大，因此推測菌根菌在種球生長的效應上可能扮演加速碳源流向小芽球的角色。

Ames 及 Linderman [6] 經由田間土壤調查發現，美國 Oregon 州鐵砲百合的根圈內生菌根菌種主要爲 *G. fasciculatum 和 Acaulospora trappei*。 Ames 及 Linderman [7] 接種百合根圈所發現的菌根菌種並配合不同施肥量，進行對鐵砲百合幼苗的生長試驗。他們發現以幼苗期接種菌根菌爲最佳時期且田間施肥量會嚴重影響菌根菌的接種效果。本次試驗的結果與 Ames 及 Linderman [7]的發現類似。於包裝袋內接種菌根菌並添加化學肥料對於種球的增大不利，但在菌根菌的感染率上的影響似乎也不顯著(表 1)。

藉由染根的觀察，菌根菌的菌絲較常自根毛侵入根部, 然後進入皮層細胞。 在進入內皮層時，會在緊鄰細胞壁處形成較粗大之箭頭式分枝構造 (圖 2，4)。這類的感染構造在過去發表的論文中尚未被描述過[9]，有關叢枝內生菌根菌在百合根內的增生構造及情形，將另文描述。另菌絲侵入之根部，其皮層組織有許多細胞，其細胞內容物較豐富，內含油滴、針狀結晶等 (圖 4~6)。 於顯微鏡下觀察並與未接菌的對照組根部染色比較(圖 3)，這些細胞與其他細胞明顯不同，這類內含物質豐富的細胞只出現在受菌根菌感染的根段，此現象有可能是根部接種菌根菌以後，由於菌根菌隨植物根部共同增生的過程會比一般根部需要更多的養份，因此增大了此處養份積儲強度(sink strength) ，從母球鱗片上轉移了更多的物質至小鱗莖及其根部，是以接種菌根菌可在此時期增大小鱗莖的大小並強健其根部。 經以碘液染色發現在叢枝體所在的細胞含有多量的澱粉, 可被染成紫褐色(圖 5，6) 。 而內容物較豐富的細胞則未能染上顏色, 顯然其中所儲存之內含物應爲其它物質。 其所含物質可能爲蛋白質、脂肪或這些物質與醣類的衍生物, 有關本項的研究將繼續探討。

誌 謝

本論文係國科會產學合作計畫(NSC87-TSC-B-055-001)之部份研究成果，在此特別感謝國科會與臺糖公司在經費、人力與技術上之協助。

引用文獻

1. 方金國、王國禧。1999。百合疫病之生物防治，61-70 頁。李國忠 編。產業科技發展學術合作論文集。臺灣，臺北。
2. 吳明哲、呂德仁、張治國。1996。臺灣地區球根花卉產業發展策略與輔導措施，7-9 頁。球根花卉產業研討會專輯。農林廳種苗改良繁殖場編印，臺灣，臺中。
3. 吳繼光。1997。菌根菌與農藥施用的互動關係，1-10 頁。有益微生物在農業上之應用研討會專刊。中華永續農業協會編印，臺灣，臺中。
4. 陳永寬。1996。臺灣地區球根花卉產業現況分析，24-38 頁。球根花卉產業研討會專輯。農林廳種苗改良繁殖場編印，臺灣，臺中。

5. Ames, R. N. 1977. Studies on the vesicular-arbuscular mycorrhizae of Easter lily in the Pacific Northwest. MS thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon, U.S.A.

6. Ames, R. N., and R. G. Linderman. 1977. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of Easter lily in the northwest United States. Can. J. Microbiol. 23:1663-1668.

7. Ames, R. N., and R. G. Linderman. 1978. The growth of Easter lily (*Lilium longiflorum*) as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Fusarium oxysporum*, and fertility level. Can. J. Bot. 56:2773-2780.

8. Menge, J. A. 1982. Effect of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi. Phytopathology 72:1125-1132.

9. Smith, S. E., and D. J. Read. eds. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York. 605 pp.

10. Trappe, J.M., R. Molina, and M. Castellano. 1984. Reactions of mycorrhizal fungi and mycorrhiza formation to pesticides. Ann. Rev. Phytopathol. 22：331-359.

11. Vanderploeg, J. F. 1972. The mycorrhizal association between *Lilium* taxa and the phycomycete *Endogone fasciculata*. MS thesis, University of Delaware, Newark, Delaware, U.S.A.

12. Wu, C.G., and S. C. Lin. eds. 1998. Technical manual of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan. 232 pp.

Influence of Biocides and Fertilizers on the VA Mycorrhizal Inoculation and Bulblet Growth of Oriental Lily [1]

Chi-Guang Wu[2], Su-Chen Lin[2], Miao-Ling Lin[2], Gwo-Dean Wu[3] and Wen-Huei Chen[3]

Summary

In this study, VA mycorrhizal fungi were inoculated to oriental lily ("Casa Blanca") scales which were embedded in vermiculite, and evaluated its interaction with selected fungicides and pesticides. Lily scales were stored at programmed temperature (25-17-5°C) to induce bulblet production. As bulblets and new roots formed, mycorrhizae were established and this innovation is helpful in increasing bulblet perimeter especially under the treatment of biocide and none-fertilizer. Fertilizer if incorporated in medium may diminish the effect of VA mycorrhizal inoculation on the growth of lily bulblets. Details of VA mycorrhizal colonization and the changes of cellular contents within roots of bulblets were discussed also.

Key words：Lily, Fungicide, Pesticide, Fertilizer, Mycorrhiza.

1. Contribution No. 1979 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Respectively, Associate Researcher, Assistant Researcher, Research assistant, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Respectively, Researcher, Department head , Department of Horticulture , Taiwan Sugar Research Institute, Tainan, Taiwan, ROC.